

ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора биологических наук, профессора
Метельской Виктории Алексеевны на диссертационную работу
Жетишевой Радимы Анатольевны «Протеомное исследование
изменений белкового состава аорты больных атеросклерозом: поиск и
идентификация белковых аутоантигенов» по специальностям
14.01.05 – Кардиология и 03.01.04 – Биохимия**

Актуальность исследования

Диссертационная работа Жетишевой Р.А. посвящена крайне важной проблеме современной биомедицинской науки – изучению белкового состава интимы и медиального слоя аорты и его изменений у больных атеросклерозом, для изучения которой автор использует новейший методический подход – протеомное профилирование.

Главная задача протеомики – исследование белкового профиля, характерного для нормального физиологического состояния организма или ассоциированного с той или иной патологией. В настоящее время в научном мире наблюдается огромный интерес к протеомике (одной из «омикс»-технологий) как для раннего обнаружения и мониторинга заболеваний, так и для разработки более эффективных методов лечения. В последние годы технологии для анализа протеома значительно усовершенствовались, появились биоинформатические инструменты, позволяющие извлекать максимальное количество информации из исследуемых образцов и осуществлять выбор белковых биомаркеров, ассоциированных с заболеванием и/или его степенью.

Несмотря на многочисленные исследования, до сих пор этиология и патогенез атеросклероза не совсем ясны. Протеомика позволяет проводить тщательный анализ белков в пораженной атеросклерозом сосудистой стенке и обнаруживать виды белков, которые участвуют в сосудистом ремоделировании и атерогенезе. Идентификация атеросклеротического протеома будет служить фундаментом для дальнейших исследований,

помогая построить и проверить новые гипотезы. В связи с этим применение современных технологий для количественного определения биомаркеров, участвующих в индукции патологических процессов, либо являющихся индикаторами риска преждевременного развития атеросклероза, рассматривается в настоящее время в качестве одного из перспективных подходов к неинвазивной верификации сердечно-сосудистой патологии.

Таким образом, актуальность темы исследования, выполненного Жетишевой Р.А., обусловлена двумя моментами: во-первых, необходимостью совершенствования методов ранней неинвазивной диагностики заболеваний, связанных с атеросклерозом, включая поиск надежных биохимических маркеров, а во-вторых, привлечением для этой цели протеомного анализа как абсолютно нового направления медицинской науки, в частности, кардиологии.

Научная новизна и практическое значение

Анализируя работу в целом, следует подчеркнуть высокую степень новизны проведенного исследования и одновременно его практическую направленность. Действительно, результаты диссертационной работы Жетишевой Р.А. с использованием современных протеомных технологий позволили расширить базу данных белков интимы и медиального слоя аорты в норме с 29 до 98. Практическая значимость состоит и в идентификации атипичных фракций ряда белков, характерных для пораженных атеросклерозом артерий. Приоритетными являются данные о более активном накоплении атипичных белков или их фракций в зоне атеросклеротических бляшек. Более того, установлено, что в сыворотке крови больных с атеросклерозом обнаруживаются антитела к атипичным белковым фракциям; это дало основание рассматривать некоторые из них в качестве аутоантигенов, что найдет реальное практическое применение в совершенствовании методов неинвазивной диагностики атеросклеротических заболеваний.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Жетишевой Р.А. базируется на достаточном клиническом и экспериментальном материале. Обоснованность и достоверность научных положений, сформулированных автором, обусловлена адекватно поставленной целью и задачами исследования, грамотным формированием дизайна исследования. Количество включенных в исследование пациентов и образцов биологического материала оказалось достаточным для решения поставленных задач. Результаты, представленные в диссертации, получены с использованием широкого спектра современных клиничко-инструментальных и лабораторных методов исследования, а также применением нового подхода – протеомного анализа. Использование адекватных методов статистического анализа подтверждает достоверность и корректность результатов, позволяет сформулировать и убедительно обосновать выводы и основные положения, выносимые на защиту.

Общая характеристика работы

Содержание и структура диссертации Жетишевой Р.А. соответствуют общепринятым требованиям, предъявляемым к диссертационным работам. Диссертация написана в традиционном стиле, состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной описанию больных и методов исследования, результатов, их обсуждения и заключения, за которыми следуют выводы и практические рекомендации. Список использованной литературы включает 162 источника отечественных и зарубежных авторов. Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста, иллюстрирована 25 таблицами и 37 рисунками.

В разделе «Введение» автор четко аргументирует актуальность выбранной темы. Цель диссертации определена ясно, задачи конкретны и полностью соответствуют цели исследования. Сформулированы положения,

выносимые на защиту, которые обосновываются в последующих главах диссертации.

Первая глава представляет собой обзор литературы, в котором изложены основополагающие представления и сведения о современном состоянии проблемы, изучаемой автором. Обзор написан хорошим литературным языком и включает анализ большого числа актуальных исследований по теме диссертации, демонстрирует глубокое знание автором работ в рамках выбранного научного направления. Особо следует отметить описание в обзоре литературы протеомных технологий, как метода исследования в целом, так и возможностей его применения для характеристики белковых детерминант атеросклеротических изменений сосудистой стенки. Подробно рассмотрено развитие протеомного анализа от двумерного электрофореза до масс-спектрометрических методов идентификации белков. Усиливают положительное впечатление от знакомства с материалом и рисунки, иллюстрирующие обзор литературы.

В главе «Материалы и методы исследования» автор дает полную характеристику включенных в исследование пациентов, подробно описаны критерии их включения, а также использованные клинико-инструментальные и биохимические методы исследования. Важно отметить, что уровень выполненных в диссертации исследований соответствует самому современному состоянию методических возможностей. В качестве материала для исследования автор использовала аутопсийный материал (более 100 образцов грудного отдела аорты от 24 умерших) с учетом наличия или отсутствия атеросклеротического поражения и сыворотку крови, полученную от обследуемых лиц (n=69, мужчины).

Методы статистической обработки данных, используемые в работе, адекватны и не вызывают сомнения в правильности полученных результатов.

В главе «Результаты» представлено подробное описание полученных данных. Прежде всего, следует положительно оценить дизайн исследования, который фактически позволил воспроизвести и проанализировать

динамичную модель развития атеросклероза от образцов с отсутствием изменений, что свидетельствует об интактных сосудах, до выраженных поражений артериальной стенки.

Из наиболее значимых следует отметить результаты послойного исследования участков аорты с разной степенью поражения и без такового, что позволило выявить и идентифицировать почти 100 белков, пополнивших известную международную базу данных. Это, в частности, аполипопротеин AI, β - и γ -фибриноген, макрофаг-кэппирующий белок, катепсин D, легкие и тяжелые цепи ферритина, гаптоглобин, супероксиддисмутаза и трансгелин, в той или иной мере вовлеченные в патогенез атеросклероза. Автору удалось обнаружить специфичность ряда белков и белковых фракций, характерных для отдельных слоев артериальной стенки и общих для интимы и меди.

Принципиально важным результатом исследования является обнаружение взаимосвязи между основными факторами риска ССЗ и наличием в аорте специфических белковых фракций, причем степень этой взаимосвязи зависит от выраженности атеросклеротического поражения. Этот факт, несомненно, найдет практическое применение при формировании диагностических биохимических панелей.

К высокоприоритетным следует отнести и результаты, показавшие, что некоторые белки/белковые фракции, вызывают развитие иммунного ответа при проведении иммуноблотинга с сыворотками крови, т. е. могут рассматриваться в качестве аутоантигенов. Примечательно, что иммунная реакция была выявлена только при анализе сыворотки крови пациентов с атеросклерозом, тогда как иммунных реакций ни на одну из белковых фракций с сывороткой здоровых не наблюдали. Очевидно, что этот результат имеет не только высокую научную значимость, но и перспективу практического внедрения.

В целом, полученные в диссертации Жетишевой Р.А. результаты будут не только способствовать более глубокому пониманию тонких механизмов

атерогенеза, но и найдут широкое практическое применение при разработке новых биомаркеров атеросклеротических заболеваний.

В главе «Обсуждение» критически с привлечением литературных источников обобщены и проанализированы полученные в диссертации результаты, рассмотрены перспективы развития этого направления и практического применения полученных результатов.

Выводы диссертации конкретны, полностью соответствуют цели работы и ее задачам, обоснованы, подтверждены фактическим материалом, базируются на достаточном количестве проведенных исследований, их достоверность не вызывает сомнений.

Практические рекомендации логично следуют из результатов диссертационной работы, сформулированы корректно, а их значимость для практики не вызывает сомнений.

Научные положения диссертации Жетишевой Р.А. отражены в 27 печатных работах: это 8 статей в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, и 19 тезисов – 7 в отечественных и 12 в зарубежных сборниках трудов научных конференций. Материалы работы доложены и обсуждены на российских и международных научных форумах.

Автореферат полностью отражает основные положения диссертации и оформлен согласно принятым требованиям.

Принципиальных замечаний по выполненной диссертации нет. Единичные неточности, встречающиеся в тексте, не умаляют значимости диссертационной работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Жетишевой Радимы Анатольевны «Протеомное исследование изменений белкового состава аорты больных атеросклерозом: поиск и идентификация белковых аутоантигенов» по специальностям 14.01.05 – Кардиология и 03.01.04 – Биохимия, является законченным самостоятельным научно-квалификационным трудом. По своей

актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертационная работа соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (с изменениями и дополнениями от 30 июля 2014 г. №723, от 21 апреля 2016г. №335, от 2 августа 2016 г. №748, от 29 мая 2017г. №650, от 28 августа 2017г. №1024, от 01 октября 2018г. №1168), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Автор диссертации Жетишева Радима Анатольевна заслуживает присвоения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.05 – Кардиология и 03.01.04 – Биохимия.

Руководитель, главный научный сотрудник отдела изучения биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России, д.б.н., профессор

Метельская Виктория Алексеевна
(14.00.06 – Кардиология, 03.00.04 – Биохимия)

Подпись профессора **В.А. Метельской**
ЗАВЕРЯЮ:

Ученый секретарь ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России,
к.м.н.

Поддубская Елена Александровна



«18» мая 2021г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России
101000, г. Москва, Петроверигский пер., д. 10, стр. 3, телефон: +7 (495) 623-86-36, e-mail: gnicpm@gnicpm.ru, сайт: www.gnicpm.ru